

動物用医薬品(サルファ剤・キノロン剤)

(全自動固相抽出装置ST-L400)



全自動固相抽出装置
ST-L400
For STQ Method

はじめに

本アプリケーションではサルファ剤とキノロン剤の一斉分析の検討を行いました。物性の異なるこれらの成分をアセトニトリルとギ酸含有アセトニトリルの2種類の溶媒で抽出操作を行うことで一斉分析が可能になりました。ここでは鶏ささみ、豚ヒレ肉、牛ヒレ肉を用いた添加回収試験の結果を示します。

Sample



Information

分析試料
・鶏ささみ
・豚ヒレ肉
・牛ヒレ肉

脂肪を除いて予冷式
ドライアイス凍結粉砕
法にて粉砕

Key word

動物用医薬品
STQ法
自動前処理
固相抽出

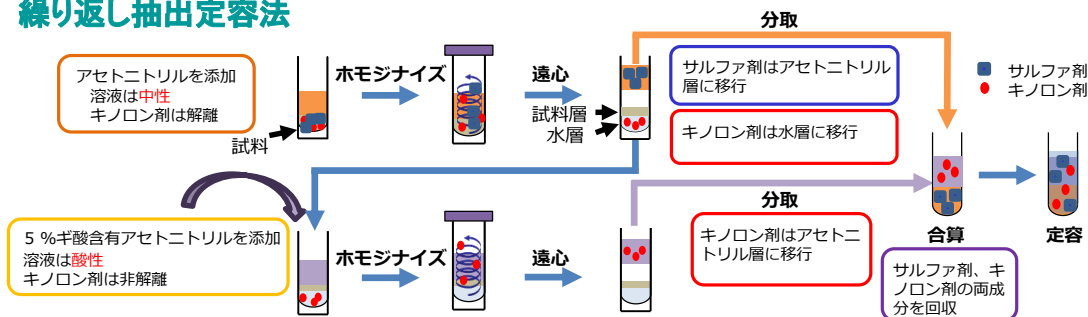
AiSTI SCIENCE

Product

ST-L400
Smart-SPE C18-50
Smart-SPE C18-30
Smart-SPE PSA-30
予冷式ドライアイス
凍結粉砕キット

株式会社アイスティサイエンス
www.aisti.co.jp
お問い合わせ先
TEL. 073-475-0033
E-Mail: as@aisti.co.jp

繰り返し抽出定容法



前処理フロー

予冷式ドライアイス凍結粉砕

試料 5g 採取

- 2ppm混合標準溶液 25 μ L
- 水 (鶏: 1.25mL, 豚: 1.25mL, 牛: 1.75mL)
- アセトニトリル 10mL

ホモジナイズ(13,000rpm 1分間)

- 塩化ナトリウム 0.5g
- 無水硫酸マグネシウム 2g

攪拌 (手で振とう 1分間)

遠心分離 (3,500rpm 5分間)

アセトニトリル層①

残さ (試料層・水層)

5%ギ酸含有アセトニトリル 10mL

ホモジナイズ(13,000rpm 1分間)

遠心分離 (3,500rpm 5分間)

アセトニトリル層②

残さ (試料層・水層)

①②合算

定容 20mL (アセトニトリルで調整)

【抽出ポイント】

アセトニトリル(中性)でサルファ剤を、5%ギ酸含有アセトニトリル(酸性)でキノロン剤を溶媒層に移行します。これらの2種類の抽出液を合算し定容することで(繰り返し抽出定容法)定量的にも精度を確保することができました。

ST-L400

約10分/検体

負荷 [通液] 抽出液 1mL

Smart-SPE C18-50mg / PSA-30mg : 精製

流出液 通液 2%ギ酸含有アセトニトリル-水 (8/2) 0.5mL

添加 水 0.5mL

Smart-SPE C18-30mg : 精製

流出液

定容 2mL (水で調整)

LC-MS/MS(注入量2 μ L 試料0.25mg相当)



全自動固相抽出装置 ST-L400
(アイスティサイエンス)

実験方法

- 粉碎方法 予冷式ドライアイス凍結粉砕法
- 添加濃度 (試料中) : **0.01 ppm**
- 最終バイアル中濃度 : **1.25 ppb**
- 標準溶液 : 林純薬工業製
PL動物薬LC/MS Mix 1 (サルファ剤 + 葉酸拮抗剤)
PL動物薬LC/MS Mix 2 (キノロン剤)
- 検量線 : 1点 : 1.25ppb (絶対検量線)
- 検量線希釈溶媒 :
①アセトニトリル
②5%ギ酸含有アセトニトリル
③2%ギ酸含有アセトニトリル-水(8/2)
④水
を体積比で1:1:1:1に混合したもの

測定条件

【測定装置】

Nexera X2及びLCMS-8045 (島津製作所製)

【LC条件】

分析カラム : ResteK Raptor™ Biphenyl(2.1 mmI.D. × 100 mmL, 2.7 μm)

移動相 A液 : 0.5mMギ酸アンモニウム + 0.1 %ギ酸 - 水

B液 : 0.1 %ギ酸 - メタノール

流速 : 0.4 mL/min

グラジエント : B.Conc2 % (0 min) → 100 % (12.5-14.5 min) → 2% (14.6-17.5 min)

分析時間 : 18分

注入量 : 2 μL (+40 μL水 共注入)

カラム温度 : 40 °C

【MS条件】

イオン化モード : ESI positive and negative

ネブライザーガス流量 : 3 L/min

ドラインガス流量 : 10 L/min

ヒーティングガス流量 : 10 L/min

インターフェース温度 : 350 °C

DL温度 : 150 °C

ヒートブロック温度 : 300 °C

測定モード : MRM

Nexera X2及びLCMS-8045
(島津製作所)

結果と考察

No.	化合物名	イオン化モード ¹⁾	保持時間 ²⁾	添加濃度 : 試料中0.01 ppm (n=5)					
				鶏ささみ		豚ヒレ肉		牛ヒレ肉	
				回収率(%)	RSD (%)	回収率(%)	RSD (%)	回収率(%)	RSD (%)
1	Sulfaguandine	P	1.838	54	3.0	59	3.4	43	1.9
2	Sulfanilamide	P	1.917	36	5.9	46	4.7	25	5.1
3	Sulfacetamide	N	3.41	91	2.3	92	5.6	88	3.5
4	Sulfisomidine	N	4.481	84	3.7	86	2.5	81	3.7
5	Sulfadiazine	P	4.839	96	3.8	90	5.5	89	2.5
6	Sulfathiazole	P	5.048	95	2.8	86	2.7	88	5.5
7	Sulfapyridine	P	5.206	87	5.6	89	3.7	86	3.5
8	Diaveridine	P	4.746	87	4.1	90	3.9	85	2.0
9	Sulfamerazine	P	5.674	90	4.9	91	4.7	88	4.7
10	Trimethoprim	P	4.844	87	4.3	88	5.1	88	3.6
11	Sulfisozole	P	5.226	96	5.9	90	4.7	88	2.5
12	Ormetoprim	P	5.305	93	2.8	89	4.2	87	2.0
13	Sulfadimidine	P	6.462	95	5.0	89	7.1	94	6.4
14	Sulfamonomethoxine	P	6.346	92	5.0	96	4.1	81	1.5
15	Sulfamethoxyipyridazine	P	6.537	97	5.4	90	4.8	93	1.9
16	Sulfachlorpyridazine	P	6.579	94	5.2	89	2.8	93	5.7
17	Sulfamethoxazole	P	6.253	98	6.4	90	2.2	86	1.6
18	Sulfadoxine	P	6.848	89	5.3	94	2.7	83	2.2
19	Sulfatroxazole	P	6.381	92	3.9	98	4.6	96	5.5
20	Sulfaethoxyipyridazine	P	7.525	94	3.8	92	2.9	86	2.6
21	Sulfisoxazole	P	6.369	100	6.0	99	4.1	91	4.2
22	Pyrimethamine	P	6.691	88	3.1	84	4.9	85	6.3
23	Sulfabenzamide	P	6.904	93	2.6	86	3.0	86	2.7
24	Sulfadimethoxine	P	7.547	92	3.5	89	2.9	84	1.7
25	Sulfaquinoxaline	P	7.816	91	3.1	90	3.9	98	2.8
26	Sulfabromomethazine	P	9.009	97	7.5	86	5.1	85	2.1
27	Sulfanitran	N	8.268	97	23.9	103	22.8	91	23.7
28	Marbofloxacin	P	5.401	83	4.4	84	3.9	84	5.3
29	Norfloxacin	P	5.186	74	5.9	80	3.1	85	6.2
30	Ofloxacin	P	5.491	83	3.2	79	4.4	92	2.3
31	Ciprofloxacin	P	5.662	79	4.9	88	9.2	83	6.1
32	Danofloxacin	P	5.805	87	4.4	86	4.1	95	3.3
33	Enrofloxacin	P	6.139	87	6.3	89	1.7	92	5.5
34	Orbifloxacin	P	6.361	73	8.0	73	4.5	78	3.6
35	Sarafloxacin	P	6.68	76	5.5	84	10.8	70	8.8
36	Difloxacin	P	6.721	82	7.2	77	4.8	87	3.9
37	Miloxacin	P	8.992	97	2.9	91	3.4	96	2.7
38	Oxolinic acid	P	8.993	99	3.2	92	3.2	94	2.7
39	Nalidixic acid	P	9.769	95	4.9	87	3.2	88	4.4
40	Flumequine	P	10.079	102	5.4	95	0.8	94	5.3
41	Piromidic acid	P	11.243	84	4.5	72	4.0	74	3.1

1)イオン化モード P : positive N : Negative

2)弊社での実測値

SulfaguandineとSulfanilamideはギ酸含有アセトニトリルと合算することで回収率が低下しましたがその他の成分では良好な回収率が得られました。Sulfanitranはピーク強度が小さいためRSD(%)が大きくなりました。